

Aktivitas Inhibisi Ekstrak Bawang Putih dan S-metil sistein terhadap Reaksi Glikasi Albumin secara *In Vitro*

Evi Sovia¹, Elin Y. Sukandar²,
Lucy D. N. Sasongko², Joseph I. Sigit²

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani
Jl. Ters. Jenderal Sudirman Cimahi 40553 Indonesia

² Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung
Jl. Ganesha 10 Bandung 40132 Indonesia

Abstrak

Hiperglikemia kronis menyebabkan terjadinya proses glikasi. Produk akhir glikasi berikatan dengan protein secara ireversibel dan dapat mengubah sifatnya secara signifikan. Akibatnya terjadi perubahan fungsi dan kerusakan dinding endotel vaskuler yang berperan dalam terjadinya komplikasi diabetes melitus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak bawang putih dan senyawa aktifnya yaitu S-metil sistein terhadap reaksi glikasi albumin secara *in vitro*. Albumin 5% dan glukosa 3% direaksikan dengan ekstrak bawang putih 0,25 – 30 mg/mL, S-metil sistein 0,0125 – 0,2 mg/mL dan piridoksamin sebagai standar. Albumin yang terglykasi dievaluasi menggunakan metode TBA (*thio-barbituric acid*). Data dianalisis menggunakan ANOVA dengan $\alpha = 95\%$ ($p < 0,05$). Tipe inhibisi ditentukan dengan meningkatkan konsentrasi glukosa sebagai substrat dengan dan tanpa penambahan ekstrak bawang putih atau S-metil sistein pada berbagai konsentrasi. Tipe inhibisi ditentukan dengan analisis data menggunakan kurva Eddie Hoftsee. Ekstrak bawang putih pada konsentrasi 30 mg/mL dan S-metil sistein pada konsentrasi 0,2 mg/mL mempunyai aktivitas inhibisi paling baik. S-metil sistein memperlihatkan potensi yang hampir sama dengan piridoksamin, sedangkan ekstrak bawang putih mempunyai potensi yang lebih rendah. Tipe inhibisi ekstrak bawang putih adalah campuran kompetitif dan nonkompetitif sedangkan tipe inhibisi S-metil sistein adalah kompetitif. Ekstrak bawang putih dan S-metil sistein dapat menghambat reaksi glikasi sehingga dapat menghambat terjadinya komplikasi pada diabetes melitus.

Kata kunci: ekstrak bawang putih, S-metil sistein, glikasi albumin.

Corresponding author:

Evi Sovia. FK Universitas Jenderal Achmad Yani Telp. (022) 6642781-83. Email: soviaevi@yahoo.com

Inhibition Activity of Garlic Extract and S-methyl Cysteine against the Reaction of the In Vitro Albumin Glication

Abstract

Chronic hyperglycemic can cause glycation. As advanced glycation end products (AGEs) irreversibly are connected with proteins, they can significantly change their properties. Consequently, the functional change and the damage of the endothelial vascular will take place. The vascular damage contributes to the pathogenesis of diabetic complication. The aim of this study is to determine the effects of garlic extract and its active compound S- methyl cysteine on in vitro albumin glycation. In the presence of 0.25 – 30 mg/mL garlic extract and 0.0125 – 0.2 mg/mL S-methyl cysteine and pyridoxamine as standard, 5% albumin was glycated with 3% glucose and evaluated using thio-barbituric acid (TBA) method. Data were analyzed using ANOVA with $\alpha=95\%$ ($p < 0.05$.) The inhibition modes of the extract and its active compound against albumin glycation activities were measured by increasing the concentration of glucose as a substrate. This measure was taken in both the absence and presence of the extract and its active compound, at different concentrations. The inhibition type was determined by Eddie Hofstee plot analysis of the data. It was found that 30 mg/mL garlic extract and 2 mg/mL S-methyl cysteine had the best inhibition activity against the reaction of albumin glycation. The inhibition activity of S-methyl cysteine was almost the same as that of pyridoxamine; however, garlic extract showed lower activity than pyridoxamine. Garlic extract had a combination of competitive and non-competitive inhibition, whereas S-methyl cysteine had a competitive inhibition against albumin glycation reaction. The findings of this research showed that garlic extract and its active compound inhibited the reaction of glycation; hence, they could decrease complications in diabetes.

Keywords: garlic extract, S-methyl cysteine, albumin glycation.

Pendahuluan

Diabetes Melitus (DM) adalah penyakit yang ditandai dengan metabolisme glukosa yang abnormal dan berisiko untuk perkembangan komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular. Hiperglikemia yang terjadi pada diabetes melitus menyebabkan komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular yang *irreversible*, termasuk retinopati, neuropati, aterosklerosis dan penyakit serebrovaskular.¹

Keadaan hiperglikemia yang kronis menyebabkan terjadinya glikasi (ikatan antara glukosa dengan gugus amin NH₂ residu lisin) dari protein darah dan lemak. Glikasi menyebabkan perubahan kimiawi dari protein, dan makromolekul lainnya yang berperan dalam

patogenesis komplikasi diabetes. Produk akhir glikasi yaitu *advanced glycation end products* (AGEs) adalah kumpulan molekul yang dibentuk dari reaksi nonenzimatik gula tereduksi dengan asam amino dari protein, lipid dan asam nukleat. Produk awal dari reaksi ini disebut *Schiff base*, yang secara spontan akan membentuk produk Amadori yang pada diabetes dikenal dengan hemoglobin A1c (HbA1c).^{2,3}

Pembentukan AGEs berhubungan dengan kontrol glukosa darah, sehingga cara yang paling efektif untuk mengurangi risiko komplikasi diabetes adalah dengan mengontrol kadar glukosa darah, tetapi kontrol glukosa darah yang baik hanya dilakukan oleh kurang dari 25% pasien diabetes, karena itu diperlukan cara lain untuk mencegah

timbulnya komplikasi diabetes. Penghambatan pembentukan AGEs sedang diteliti dengan intensif untuk mencegah komplikasi diabetes. Penghambatan pembentukan AGEs pada penyakit diabetes dapat membatasi kerusakan jaringan, memperlambat progresivitas penyakit dan meningkatkan kualitas hidup.^{2,4}

Banyak bukti yang menunjukkan bahwa AGEs berperan penting pada terjadinya komplikasi diabetes, baik yang disebabkan oleh mikroangiopati maupun makroangiopati. AGEs ditemukan dalam pembuluh darah retina pasien diabetes dan kadarnya berhubungan dengan kadar dalam serum dan derajat retinopati. AGEs juga terakumulasi dalam saraf perifer pasien diabetes dan penggunaan antiAGEs meningkatkan kecepatan konduksi saraf dan aliran darah ke saraf. Perubahan struktural pada nefropati diabetes disertai dengan akumulasi AGEs, menyebabkan glomerulosklerosis dan fibrosis interstitial. Inhibitor AGEs seperti aminoguanidin dapat mencegah nefropati diabetes baik pada model hewan diabetes maupun pada uji klinis terhadap pasien diabetes. Penelitian pada hewan dan manusia memperlihatkan peran AGEs pada pembentukan dan perkembangan lesi aterosklerosis. AGEs juga menyebabkan kolesterol lebih mudah teroksidasi dan dideposit dalam dinding sel serta menyebabkan pembentukan plak aterosklerosis.^{1,3,5}

Ekstrak bawang putih maupun S-metil sistein yang merupakan salah satu komponen aktif dari bawang putih telah diketahui mempunyai aktivitas antidiabetes.^{6,7,8,9} Ekstrak bawang putih dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan mekanisme peningkatan sekresi insulin dari pankreas. Peningkatan

sekresi insulin dapat menurunkan kadar glukosa darah sehingga dapat menurunkan pembentukan AGEs.¹⁰

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas inhibisi ekstrak bawang putih dan S-metil sistein terhadap reaksi glikasi albumin secara *in vitro* dibandingkan dengan piridoksamin. Kami juga meneliti tipe inhibisi dari ekstrak dan komponennya.

Dengan dihambatnya reaksi glikasi maka pembentukan AGEs sebagai produk akhir glikasi juga akan terhambat. Dengan demikian resiko komplikasi mikrovaskular maupun makrovaskular pada penderita DM dapat dikurangi.

Bahan dan Cara

Bahan

S-metil sistein (Sigma), asam oksalat, asam trikloroasetat, asam tiobarbiturat, dan dapar fosfat.

Ekstrak bawang putih

Umbi lapis bawang putih segar diperoleh dari Kebun Percobaan Tanaman Obat Manoko, Lembang. Tanaman diidentifikasi oleh Sekolah Tinggi Ilmu Hayati, Institut Teknologi Bandung.

Sebanyak 1,5 kg simplisia diekstraksi secara maserasi. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi berdasarkan kepolaran meningkat yaitu n-heksana, etil asetat dan etanol 70%. Maserasi simplisia dilakukan selama 24 jam dengan 3 L n-heksana, ekstrak disaring dan kemudian dilakukan dua kali maserasi terhadap ampas dengan cara dan pelarut yang sama. Ekstrak sisa ekstraksi dengan n-heksana kemudian dikeringkan. Ampas kering selanjutnya dimaserasi dengan 3 L etil asetat selama

24 jam, kemudian ekstrak disaring dan terhadap ampas dilakukan dua kali maserasi dengan cara dan pelarut yang sama. Ampas sisa ekstraksi dengan etil asetat dikeringkan dan kemudian dimaserasi dengan 3 L etanol 70% selama 24 jam. Ekstrak disaring dan terhadap ampas dilakukan dua kali maserasi dengan cara dan pelarut yang sama. Selanjutnya ketiga ekstrak yaitu n-heksana, etil asetat dan etanol 70% diuapkan dengan alat penguap vakum putar (Buchi Rotavapor R-124, Buchi Waterbath R-480).

Dari penelitian pendahuluan dengan menggunakan metode Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO), ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas antidiabetes yang paling baik sehingga pada penelitian ini digunakan ekstrak etil asetat.

Reagen

Asam oksalat 0,5 mol/L. 31,5 g asam oksalat dilarutkan dalam 500 mL akuades. Reagen ini stabil selama dua minggu pada suhu kamar, tetapi karena dapat terjadi degradasi kristal asam oksalat pada penyimpanan lama, maka disimpan pada suhu -20°C maksimal selama 6 bulan.¹¹ Asam trikloroasetat, 400 g/L. 400 g asam trikloroasetat dilarutkan dalam 1 L akuades. Reagen ini stabil untuk 3 bulan pada suhu 4°C.¹¹

Asam tiobarbiturat (TBA), 50 mmol/L. 0,72 g asam tiobarbiturat dilarutkan dalam 100 mL akuades. pH disesuaikan sampai 6,0 dengan penambahan NaOH 1N. Reagen ini stabil selama satu minggu pada suhu kamar.¹¹

Dapar fosfat pH 7,4. 2,1 g sodium asam fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 19,1 g sodium fosfat ($\text{NaHPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), dan 4,4 g sodium klorida (NaCl) dilarutkan dalam 1 L akuades.¹¹

Cara¹²

1. Reaksi glikasi albumin

Satu mL larutan glukosa 3% ditambahkan ke dalam 1 mL larutan albumin 5%. Untuk mencegah kontaminasi ditambahkan 1 mL Gentamisin dengan konsentrasi 20 mg/100 mL (Gentamisin 20 mg/mL diencerkan dalam 99 mL buffer fosfat (pH= 7,4) dan diinkubasi selama 3 minggu dalam suhu kamar pada posisi konstan. Setelah masa inkubasi, larutan di atas dimasukkan ke dalam kantung dialisis dan didialisis dalam 10 mL buffer fosfat (pH = 7,4) selama 3 jam.

2. Pengukuran kadar glikasi albumin

Untuk menentukan glikasi albumin, digunakan metode TBA, yaitu 1 mL asam trikloro asetat 400g/L ditambahkan ke dalam larutan hasil dialisis, kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada 3000 rpm. Supernatan dibuang, lalu ditambahkan lagi 1 mL TCA 400g/L ke dalam filtrat kemudian disentrifugasi lagi dengan waktu dan kecepatan yang sama. Supernatan dibuang lagi, lalu ditambahkan TCA 400g/L dan disentrifugasi dengan waktu dan kecepatan yang sama. Satu mililiter buffer fosfat (pH= 7,4) dan 0,5 mL asam oksalat 31,5 g/500 mL ditambahkan ke dalam sedimen dan disimpan dalam penangas air sampai larutan mendidih. Setelah didinginkan dengan dibiarkan pada suhu kamar, ditambahkan 1 mL TCA 400g/L ke dalam setiap sampel, kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada 3000 rpm. Supernatan dipisahkan dan ditambahkan 1 mL TBA 50 mmol/L ke dalam 1 mL larutan supernatan tersebut, kemudian disimpan dalam penangas air dengan suhu 40°C selama 30

menit. Akhirnya, absorbansi sampel diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 443 nm.

3. Penentuan efek ekstrak bawang putih dan S-metil sistein terhadap reaksi glikasi albumin

Ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 0,25 - 30 mg/mL atau S-metil sistein dengan konsentrasi 0,0125 - 0,2 mg/mL atau piridoksamin dengan konsentrasi 0,0125-0,2 mg/mL ditambahkan ke dalam larutan yang berisi albumin 5% dan glukosa 3% (dalam larutan buffer fosfat Gentamisin) dan diinkubasi selama 3 minggu pada suhu kamar. Untuk menentukan efek masing-masing, dilakukan reaksi TBA seperti tersebut di atas.

Kinetik inhibisi glikasi

Tipe inhibisi ekstrak bawang putih dan S-metil sistein terhadap glikasi albumin diukur dengan meningkatkan konsentrasi glukosa sebagai substrat dengan atau tanpa adanya ekstrak bawang putih dan S-metil sistein pada berbagai konsentrasi. Tipe inhibisi ditentukan dengan analisis data kurva Eddie Hofstee, yang perhitungannya sesuai dengan kinetik Michaelis-Menten.

Analisis statistik

Data ditampilkan dalam rata-rata \pm standar deviasi. Untuk membandingkan

aktivitas inhibisi ekstrak bawang putih dan S-metil sistein berbagai konsentrasi digunakan uji ANOVA.

Hasil dan Pembahasan

Hasil

Ekstrak bawang putih memperlihatkan aktivitas inhibisi terhadap reaksi glikasi albumin. Ekstrak bawang putih dengan konsentrasi antara 0,25-30 mg/mL digunakan dalam pengujian dan dengan menggunakan metode TBA ditentukan inhibisinya terhadap reaksi glikasi albumin. Aktivitas inhibisi ekstrak bawang putih meningkat secara sangat signifikan ($p < 0,01$) dengan meningkatnya konsentrasi, aktivitas inhibisi maksimal yaitu $81,17 \pm 0,76$ % dicapai pada konsentrasi 30 mg/mL (Tabel 1).

Aktivitas inhibisi S-metil sistein juga meningkat secara sangat signifikan ($p < 0,01$) dengan meningkatnya konsentrasi, aktivitas inhibisi maksimal yaitu $76,30 \pm 7,90$ % dicapai pada konsentrasi 0,2 mg/mL. Demikian juga dengan piridoksamin sebagai standar, aktivitas inhibisinya meningkat secara signifikan dengan meningkatnya konsentrasi dan mencapai aktivitas inhibisi maksimal pada konsentrasi 0,2 mg/mL yaitu $95,60 \pm 3,56$ % (Tabel 2 dan 3).

Tabel 1. Perbandingan Efek Ekstrak Bawang Putih terhadap Glikasi Albumin dengan Konsentrasi yang Berbeda

Konsentrasi ekstrak bawang putih (mg/mL)	Kadar inhibisi glikasi albumin (%)	<i>Standard error</i>	nilai F	nilai P
0,25	12,00 ± 1,00	0,58		
0,5	14,67 ± 0,58	0,33		
1	19,53 ± 4,38	2,53		
10	37,17 ± 5,16	2,98		
15	57,17 ± 5,16	2,98		
20	75,23 ± 7,90	4,55		
25	79,67 ± 0,58	0,33		
30	81,17 ± 0,76	0,44	156,85 (10,91)	0,000

Tabel 2. Perbandingan Efek S-metil sistein terhadap Glikasi Albumin dengan Konsentrasi yang Berbeda

Konsentrasi S-metil sistein (mg/mL)	Kadar inhibisi glikasi albumin (%)	<i>Standard error</i>	nilai F	nilai P
0,0125	29,35 ± 13,06	7,54		
0,025	47,60 ± 4,16	2,40		
0,05	75,23 ± 3,62	2,09		
0,1	75,60 ± 7,86	0,55		
0,2	76,30 ± 7,90	0,34	34,22 (8,34)	0,004

Tabel 3. Perbandingan Efek Piridoksamin terhadap Glikasi Albumin dengan Konsentrasi yang Berbeda

Konsentrasi Piridoksamin (mg/mL)	Kadar inhibisi glikasi albumin (%)	<i>Standard error</i>	nilai F	nilai P
0,0125	26,60 ± 7,88	5,34		
0,025	58,10 ± 9,53	2,32		
0,05	88,56 ± 2,85	2,16		
0,1	90,35 ± 1,45	1,52	27,22	
0,2	95,60 ± 3,56	0,34	(6,34)	0,002

Tabel 4. Efek Inhibisi Ekstrak Bawang Putih dan S-metil sistein terhadap Reaksi Glikasi Albumin

Zat Uji	IC50* (mg/mL)
Bawang putih	13,8
S-metil sistein	0,022
Piridoksamin	0,018

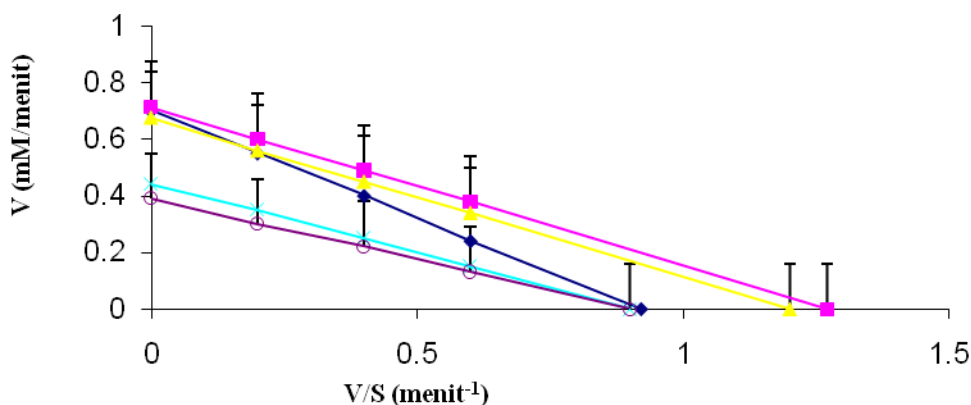
*IC50, konsentrasi inhibitor untuk menghambat 50% aktivitas

Tabel 4 memperlihatkan IC50 masing-masing zat uji untuk mengetahui potensinya sebagai inhibitor glikasi albumin dibandingkan dengan piridoksamin. S-metil sistein memperlihatkan potensi yang hampir sama dengan piridoksamin, sedangkan ekstrak bawang putih mempunyai potensi yang lebih rendah dibandingkan dengan piridoksamin.

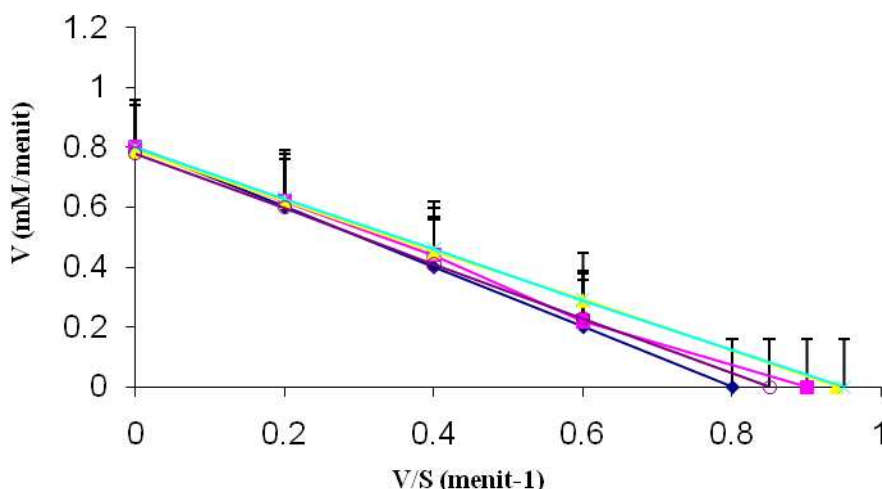
Tipe inhibisi ekstrak bawang putih dan S-metil sistein terhadap glikasi albumin juga ditentukan dengan meningkatkan konsentrasi glukosa sebagai substrat. Ekstrak bawang putih mempunyai tipe inhibisi campuran kompetitif dan nonkompetitif. Pada

konsentrasi rendah (1 dan 10 mg/mL) ekstrak bawang putih mempunyai tipe inhibisi kompetitif dimana K_m lebih besar ($K_m = -0,56$) daripada K_m tanpa inhibitor ($K_m = -0,76$). Pada konsentrasi tinggi (15 dan 20 mg/mL) mempunyai tipe inhibisi nonkompetitif karena mempunyai K_m yang lebih kecil ($K_m = -0,83$) daripada K_m tanpa inhibitor (Gambar 1).

S-metil sistein mempunyai tipe inhibisi kompetitif terhadap reaksi glikasi albumin karena mempunyai K_m yang lebih besar ($K_m = -0,88$) daripada K_m tanpa inhibitor ($K_m = -1,009$) (Gambar 2).



Gambar 1. Kurva Eddie Hofstee dari reaksi glikasi albumin dengan adanya ekstrak bawang putih (berlian, tanpa inhibitor; kotak 1 mg/ml; segitiga 10 mg/ml; silang 15 mg/ml; lingkaran 20 mg/ml)



Gambar 2. Kurva Eddie Hofstee dari reaksi glikasi albumin dengan adanya S-metilsistein (berlian, tanpa inhibitor; kotak 0,0125 mg/ml; segitiga 0,025 mg/ml; silang 0,05 mg/ml; lingkaran 0,1 mg/ml)

Pembahasan

Keadaan hiperglikemia yang kronis menyebabkan terjadinya glikasi (ikatan antara glukosa dengan gugus amin NH_2 residu lisin) dari protein darah dan lemak. Glukosa, bertindak sebagai substrat, membentuk produk awal glikasi, disebut *Schiff bases*, yang kemudian menjadi produk yang lebih stabil yaitu produk Amadori. Produk Amadori ini beberapa bulan sampai beberapa tahun kemudian mengalami penyusunan lanjut menghasilkan AGEs. AGEs tersebut resisten terhadap degradasi enzimatik sehingga sangat stabil.^{1,2,3} Banyak bukti yang menunjukkan bahwa AGEs berperan penting pada terjadinya komplikasi diabetes baik yang disebabkan oleh mikroangiopati maupun makroangiopati.^{1,3}

Berbagai intervensi farmakologi telah dilakukan untuk mengurangi

glikasi sehingga akumulasi AGEs dapat dikurangi melalui penurunan jumlah AGEs atau melalui modifikasi kimia dengan menginaktivasi AGEs yang ada. Aminoguanidin, piridoksamin, benfotiamin, OPB-9195, ALT-946 dan metformin menurunkan akumulasi AGEs dengan menghambat pembentukan AGEs.¹

Pada penelitian ini digunakan piridoksamin sebagai pembanding. Piridoksamin, derivat vitamin B6, menghambat pembentukan AGEs. Piridoksamin menghambat karbonil reaktif dalam pembentukan AGEs dan menghambat pembentukan AGEs dari produk Amadori. Pada tikus diabetes, pemberian piridoksamin mempunyai efek antioksidan yang poten dan menurunkan albuminuria, kreatinin plasma, dan hiperlipidemia tanpa mengubah kadar gula darah.²

Bahan alam yang diketahui mempunyai efek antiglikasi yaitu Arbutin (*hydroquinone-D-glucopyranoside*) yang secara alami merupakan senyawa yang dihasilkan oleh beberapa spesies tanaman seperti dari family Ericaceae (*Arctostaphylos* spp.), Betulaceae (*Betula alba*) and Rosaceae (*Pyrus communis* L.).¹³ Tanaman lain yang mempunyai efek antiglikasi yaitu Pomegranate (*Punica granatum* L.). Campuran ekstrak beberapa tanaman seperti *Anthemis nobilis* (Roman chamomile), *Crataegus oxyacantha* (Hawthorn berry), *Houttuynia cordata* (Dokudami) dan *Vitis vinifera* (Grape leaf) juga diketahui mempunyai efek antiglikasi.^{14,15}

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih dan komponen aktifnya yaitu S-metil sistein mempunyai aktivitas inhibisi terhadap reaksi glikasi albumin. Aktivitas inhibisi maksimal ekstrak bawang putih yaitu 81,17% dicapai pada konsentrasi 30 mg/mL. Penelitian sebelumnya terhadap beberapa senyawa dari bahan alam yaitu yang berasal dari *Carum petroselinum*, *Psoralea corylifolia*, *Iris tenuifolia*, *Albatrellus dispansus*, *Fumaria parviflora*, *Ficaria vicia*, *Siraitia grosvenori*, *Rorippa indica*, *Fagopyrum esculentum* dan *Spiraea ulmaria* memperlihatkan aktivitas inhibisi glikasi sebesar 76,25%, 82,75%, 70,4%, 80,15%, 76,36%, 79,5%, 70%, 65%, 82,5% dan 70,51% secara berurutan.¹⁶

IC₅₀ S-metil sistein (0,022 mg/mL) dan ekstrak bawang putih (13,8 mg/mL) jauh lebih rendah daripada penelitian sebelumnya terhadap arbutin (IC₅₀ = 1361 mg/mL). Hal ini berarti bahwa potensi inhibisi glikasi ekstrak bawang putih dan S-metil sistein lebih tinggi.¹³ Pada penelitian ini, potensi inhibisi glikasi S-metil sistein hampir sama dengan piridoksamin sebagai standar, sedangkan potensi inhibisi ekstrak

bawang putih lebih rendah dibandingkan dengan piridoksamin.

Seperti diketahui bahwa hasil dari reaksi glikasi albumin yaitu *advanced glycation end products* (AGEs) berperan untuk terjadinya komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular pada penderita diabetes melitus. AGEs adalah kelompok senyawa heterogen yang dibentuk dari reaksi nonenzimatik gula tereduksi dengan asam amino dari protein, lemak dan asam nukleat. Produk awal dari reaksi ini disebut *Schiff base*, yang mana secara spontan membentuk produk Amadori, yang dikenal sebagai hemoglobin A1c. Reaksi awal ini bersifat *reversible* tergantung dari konsentrasi reaktan. Kadar glukosa darah yang rendah akan melepaskan ikatan glukosa dengan asam amino, sebaliknya kadar glukosa yang tinggi akan menyebabkan efek yang berlawanan, jika menetap. Kecepatan pembentukan AGE tergantung dari konsentrasi gula darah, tingkat stres oksidatif dan waktu pemaparan.^{1,3}

Pada penelitian ini glukosa 3% dicampurkan dengan albumin 5% dan diinkubasi selama 3 minggu sehingga terjadi reaksi glikasi. Reaksi glikasi yang terjadi diamati dengan menggunakan metode TBA. Penambahan ekstrak bawang putih dan S-metil sistein dapat menghambat reaksi glikasi albumin. Hal ini dapat terlihat dari pembentukan warna yang terjadi setelah direaksikan dengan menggunakan metode TBA dan diukur dengan spektrofotometer.

Tipe inhibisi diamati dengan meningkatkan konsentrasi glukosa sebagai substrat. Ekstrak bawang putih mempunyai tipe inhibisi campuran kompetitif dan nonkompetitif. Pada konsentrasi rendah, ekstrak bawang putih berkompetisi secara kompetitif dengan albumin untuk berikatan dengan

glukosa sehingga tidak terjadi glikasi albumin, sedangkan pada konsentrasi tinggi mempunyai tipe inhibisi nonkompetitif. Hal ini kemungkinan disebabkan komposisi ekstrak bawang putih mengandung lebih dari satu senyawa yang memiliki tipe inhibisi yang berbeda.

Dari kurva Eddie Hofstee (Gambar. 1) yang menggambarkan hubungan laju reaksi (V) dengan laju reaksi/konsentrasi substrat (V/S), K_m (konsentrasi substrat dimana laju reaksi adalah $\frac{1}{2}$ dari V_{max} (laju reaksi maksimum)) adalah *slope* dari kurva. Dari kurva tersebut dapat terlihat bahwa dengan penambahan ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 15 dan 20 mg/mL sebagai inhibitor, K_m tidak berubah dibandingkan tanpa ekstrak bawang putih. Dengan inhibisi nonkompetitif, ikatan antara glukosa dengan albumin tidak akan menghasilkan AGEs. Inhibitor nonkompetitif adalah molekul yang berikatan dengan tempat lain dari enzim dan mengurangi efisiensinya. Dengan adanya inhibitor nonkompetitif laju reaksi akan berkurang untuk semua konsentrasi substrat $[S]$, termasuk V_{max} dan setengah V_{max} , tetapi K_m tidak berubah karena tempat aktif tidak berubah. Keuntungan dari inhibitor nonkompetitif ini adalah walaupun kadar glukosa darah meningkat, pembentukan AGEs tetap dapat dihambat.

S-metil sistein mempunyai tipe inhibisi kompetitif. Inhibitor kompetitif adalah molekul yang berikatan pada tempat yang sama dengan substrat sehingga mencegah substrat berikatan dengan enzim. Dengan adanya inhibitor kompetitif, maka dibutuhkan konsentrasi substrat yang lebih tinggi untuk mencapai laju yang sama dengan

tanpa inhibitor. Jadi ketika V_{max} masih dapat dicapai jika substrat mencukupi, setengah V_{max} memerlukan konsentrasi substrat $[S]$ yang lebih tinggi, karena itu K_m lebih luas. Dari kurva Eddie Hofstee (Gambar 2) dapat terlihat bahwa dengan penambahan S-metil sistein sebagai inhibitor, K_m lebih luas dibandingkan tanpa S-metil sistein. Dengan inhibitor kompetitif, apabila konsentrasi gula darah sangat tinggi, maka proses glikasi masih dapat terjadi sehingga AGEs tetap terbentuk.

Pembentukan AGEs juga berhubungan dengan kontrol gula darah. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bawang putih mempunyai efek antidiabetes.^{6,7,8,9} Selain sebagai antidiabetes ekstrak bawang putih juga dapat menghambat pembentukan AGEs secara *in vitro*.^{12,17} Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa bawang putih dapat mencegah dan mengontrol penyakit kardiovaskuler bila dikonsumsi sebagai suplemen makanan.^{18,19,20,21,22} Penelitian ini mendukung penelitian-penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih mencegah komplikasi diabetes melitus dengan menurunkan kadar gula darah dan menghambat pembentukan HbA1c.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa S-metil sistein mempunyai efek antidiabetes, tetapi aktivitas bawang putih dan S-metil sistein terhadap glikasi protein belum jelas. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih dan S-metil sistein mempunyai aktivitas inhibisi terhadap glikasi albumin. Diantara beberapa konsentrasi ekstrak bawang putih yang digunakan, ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 30 mg/mL mempunyai aktivitas inhibisi paling

tinggi sedangkan aktivitas inhibisi maksimal S-metil sistein pada konsentrasi 0,2 mg/mL.

Simpulan

Ekstrak bawang putih dan komponennya yaitu S-metil sistein mempunyai aktivitas inhibisi terhadap reaksi glikasi albumin. Produk akhir glikasi yaitu *advanced glycation end products* (AGEs) yang pada diabetes dikenal dengan hemoglobin A1c (HbA1c) berperan pada terjadinya komplikasi DM. Aktivitas inhibisi ekstrak bawang putih dan S-metil sistein berperan pada kemampuannya untuk mencegah terjadinya komplikasi diabetes melitus. Terjadinya komplikasi diabetes melitus karena makroangiopati dan mikroangiopati yang disebabkan meningkatnya HbA1c yang merupakan hemoglobin yang terglykosilasi (produk dari reaksi glikasi).

Tipe inhibisi ekstrak bawang putih adalah campuran kompetitif dan nonkompetitif, sedangkan tipe inhibisi S-metil sistein adalah kompetitif. Tipe inhibisi nonkompetitif lebih menguntungkan karena pada keadaan kadar gula darah sangat tinggi masih dapat menghambat terbentuknya produk glikasi.

Daftar Pustaka

1. Johnsen M, Paavonen AS. Glycosilation Inhibitors, PKC Inhibitors, and Related Interventions Against Complications. Dalam: Mongensen CE, ed. Pharmacotherapy of Diabetes: New Developments. New York: Springer; 2007.
2. Mendez JD. Advanced glycosylation end products and chronic complications of diabetes melitus. Gac Med Mex. 2003; 139 (1):45-9.
3. Peppas M, Jaime U, Vlassara H. Glucose, advanced glycation end products, and diabetes complications: what is new and what works. Clin Diabetes. 2003; 21(4): 186-7.
4. Baynes JW. The role of AGEs in aging: causation or correlation. Exp Gerontol. 2001; 36(9):1527-37.
5. Stitt AW, Jenkins AJ, Cooper ME. Advanced glycation end products and diabetic complications. Expert opin investig drugs. 2002; 11(9):1205-23.
6. Thomson M, Al-Amin ZM, Al-Qattan KK, Shaban LH, Ali M. Antidiabetic and hypolipidaemic properties of garlic (*Allium sativum*) in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Int J Diabetes & Metabolism. 2007; 15:108-15.
7. Eidi A, Esmailia E. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Phytomedicine. 2006; 3:624-29.
8. Kumari K, Augusti KT. Antidiabetic and antioxidant effects of S-methyl cysteine sulfoxide isolated from onions (*Allium cepa* Linn) as compared to standard drugs in alloxan diabetic rats. Indian J Exp Biol. 2002; 40(9):1005-9.
9. Sheela CG, Kumud K, Augusti KT. Antidiabetic effects of onion and garlic sulfoxide amino acids in rats. Planta Med. 1995 ; 61(4):356-7.
10. Banarjee SK, Maulik SK. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. J Nutr. 2002; 1(4):1-14.
11. Standefer J, Eaton RP. Evaluation of a Colorimetric Method for Determination of Glycosylated Hemoglobin. Clin Chem. 1983; 29(1):135-40.
12. Sheikh N, Safarin MR, Kashani M, Araghian M, Zeraati F. Study on the effect of garlic on the in vitro albumin glycation reaction. Acta Medica Iranica. 2004; 42 (1):16-8.
13. Jedsadayanmata A. *In vitro* antiglycation activity of arbutin. Naresuan University Journal. 2005; 13(2):35-41.
14. Nishigaki I, Rajendran P, Venugopal R, Ekambaram G, Sakthisekaran D, Nishigaki Y. Effect of extract of Pomegranate (*Punica granatum*) on

- glycated protein iron chelate induced toxicity: an in vitro on human umbilical vein endothelial cells. *J. Health Science*. 2008; 54 : 441-9.
15. Yonei Y, Miyazaki R, Takahashi Y, Takahashi H, Nomoto K, Yagi M, Kawai H, Kubo M, Matsuura N. Anti-glycation effect of mixed herbal extract in individuals with pre-diabetes melitus: a double-blind, placebo-controlled, parallel group study. *Anti-Aging Med*. 2010; 7:26-35.
 16. Atta-ur-Rahman, Choudhary MI, Basha FZ, Abbas G, Khan SN, Shah SAA. Science at the interface of chemistry and biology: discoveries of α -glucosidase inhibitors and antiglycation agents. *Pure Appl. Chem*. 2007; 79:2263-8.
 17. Ahmad MS, Ahmed N. Antiglycation properties of aged garlic extract: possible role in prevention of diabetic complications. *J Nutr*. 2006; 136: 796S-799S.
 18. Rahman K. Historical perspective on garlic and cardiovascular disease. *J Nutr*. 2001; 131(3s):977S-9779S.
 19. Resch KL. Garlic (*Allium sativum*) a potent medicinal plant. *Fortschr Med*. 1995; 113(20-21):311-5.
 20. Steiner M, Li W. Aged garlic extract, a modulator of cardiovascular risk factors: a dose-finding study on the effects of AGE on platelet functions. *J Nutr*. 2001; 131(3s):980S-984S.
 21. Rajasree CR, Rajmohan T, Auguti KT. Antiatherogenic and antiperoxidative effects of garlic and soy proteins in alcohol fed rats. *Indian J of Exp Biol*. 2009; 47 (3):169-75.
 22. Kendler BS. Garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*): a review of their relationship to cardiovascular disease. *Prev Med*. 1987; 16(5):670-85.